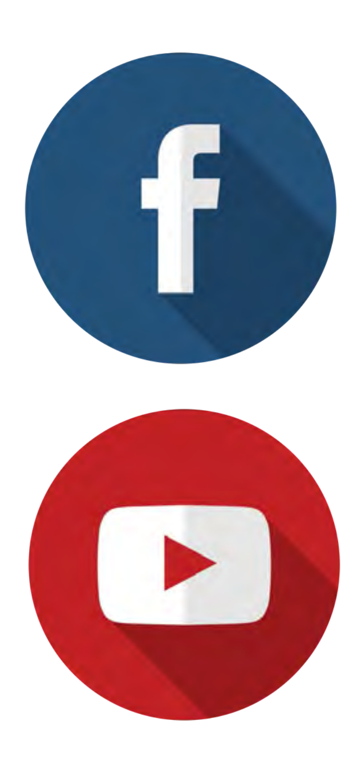
In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful







FACULTÉ DE MÉDECINE DE TLEMCEN
Département de Médecine

3ème Année de Médecine
2016 - 2017
Module d'Immunologie Générale (P319)

Immunité Humorale

Les Lymphocytes B et BCR

Pr MEDDOUR . Y

Service d'Immunologie
Hôpital Central de l'Armée

Plan du cour

Introduction

Ontogenèse des lymphocytes B
- Développement des lymphocytes B dans la moelle osseuse
- Mécanismes de sélection
- Les lymphocytes B dans les organes lymphoïdes périphériques

Marqueurs des lymphocytes B

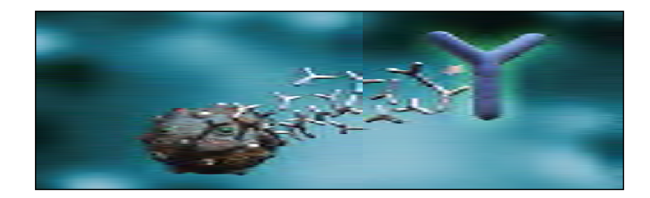
Activation des lymphocytes B
- Signal activateur
- La réponse primaire et secondaire en Ig

Exploration des lymphocytes B
- Dosage des immunoglobulines dans les liquides biologiques
- Electrophorèse et immunoélectrophorèse des protéines
- Dénombrement des LB
- Tests fonctionnels

2

Introduction

- ✓ Chez l'homme: 5 à 15% des lymphocytes sanguins (200 à 400/mm3).
- ✓ Les lymphocytes B du système immunitaire assurent l'immunité humorale.
- ✓ Immunité humorale est transférable par le sérum
- ✓ Les LB sont capables de produire des immunoglobulines après différenciation en plasmocytes.
- ✓ L'organisme possède un répertoire incomplet de cellules B, prêtes à se différencier et à proliférer
- ✓ Tous les jours et tout au long de la vie, l'organisme produit des dizaines de milliards de nouvelles cellules B issues des cellules souches.



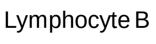
3

Morphologie

- ✓ Pas de différence entre T et B (microscope optique ou électronique)
- ✓ dans les B : B néoformé, centroblaste, centrocyte, plasmocyte

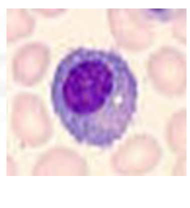






Lymphocyte B



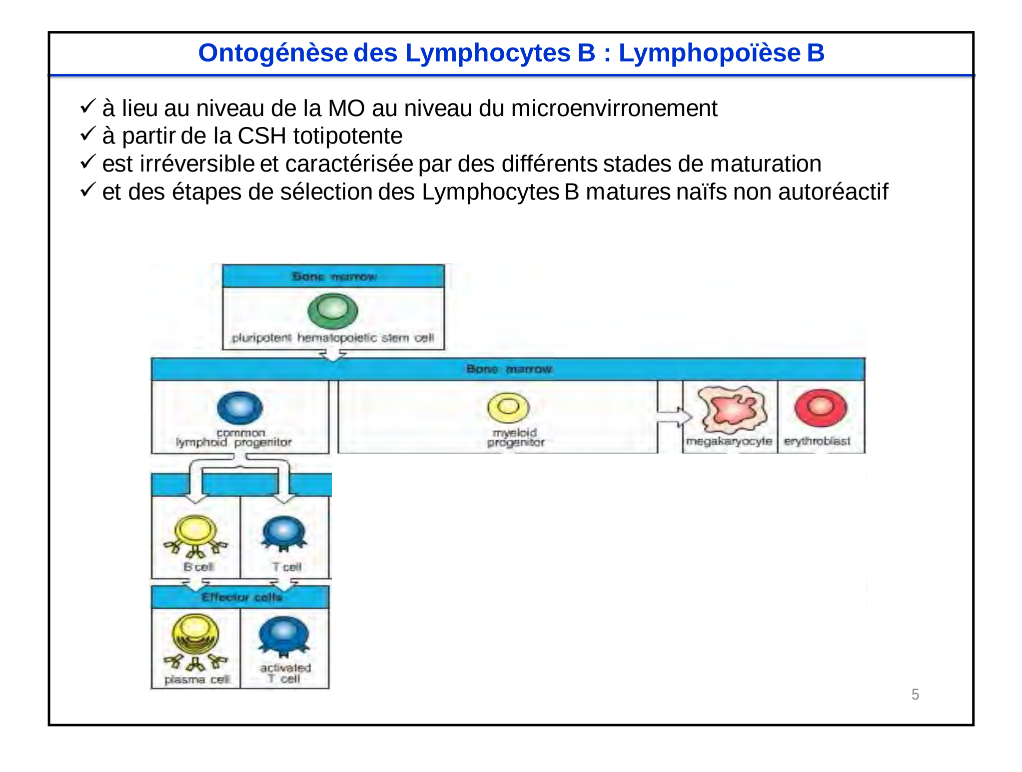


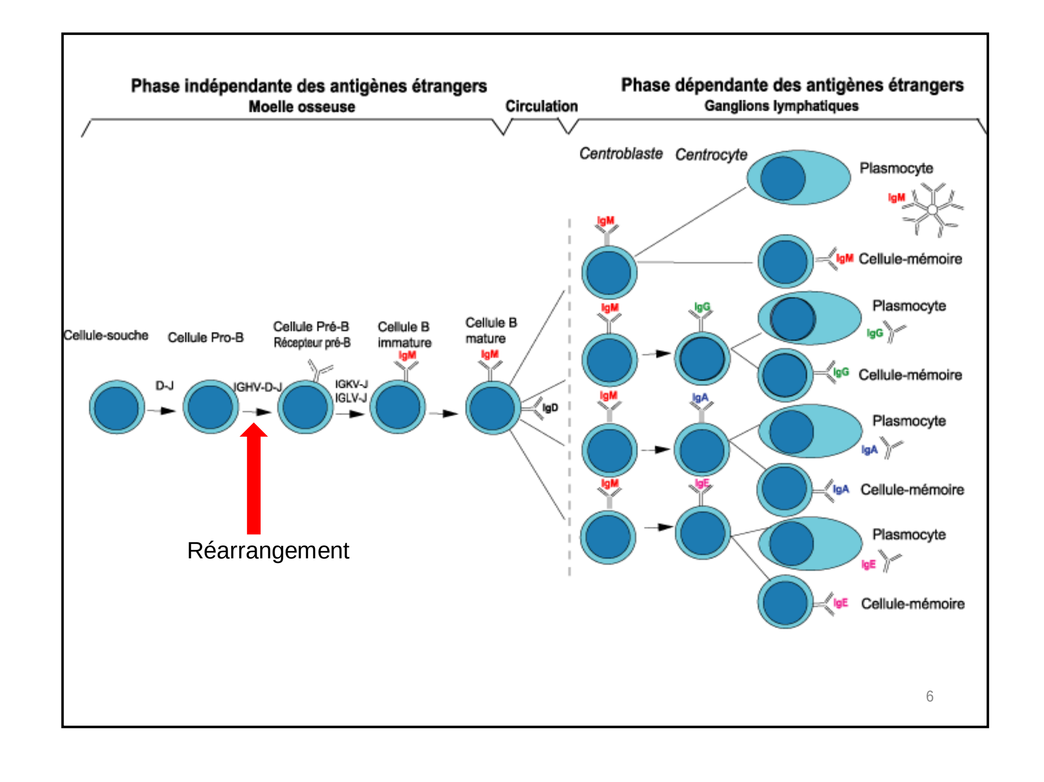
Plasmocyte

Localisation :

- ✓ Les lymphocytes B représentent 10 à 20% des lymphocytes circulants
- ✓ Ils sont très peu nombreux dans le canal thoracique.
- ✓ Dans la moelle osseuse, on retrouve les B néoformés, les B mémoires et les pré B.
- ✓ Les lymphocytes B sont retrouvés également dans les zones T indépendantes OLP (les follicules lymphoïdes (cortex externe), les plaques de Peyer)

4


Ontogénèse des Lymphocytes B : Lymphopoïèse B
✓ à lieu au niveau de la MO au niveau du microenvironnement
✓ à partir de la CSH totipotente
✓ est irréversible et caractérisée par des différents stades de maturation
✓ et des étapes de sélection des Lymphocytes B matures naïfs non autoréactif
Bone marrow
pluripotent hematopoietic stem cell
Bone marrow
common lymphoid progenitor
myeloid progenitor
megakaryocyte
erythroblast
B cell
T cell
Effector cells
plasma cell
activated T cell
5


Phase indépendante des antigènes étrangers
Moelle osseuse
Circulation
Phase dépendante des antigènes étrangers
Ganglions lymphatiques
Centroblaste
Centrocyte
Plasmocyte
Cellule-mémoire
Cellule-souche
Cellule Pro-B
Cellule Pré-B
Récepteur pré-B
Cellule B immature
Cellule B mature
D-J
IGHV-D-J
IGKV-J
IGLV-J
IgM
IgD
IgG
IgA
IgE
Réarrangement
6

Le cycle de vie des lymphocytes B peut être divisé théoriquement en **quatre phases**:

La première étape ; les cellules B acquièrent des récepteurs spécifiques « B Cell Receptor » (BCR) à la suite des réarrangements ordonnés des gènes d'immunoglobulines.

La deuxième phase met à l'épreuve la capacité de ces récepteurs spécifiques à réagir avec les composants normaux de l'organisme dits molécules du soi.

La troisième phase, les cellules B matures naïves, ayant survécues à la sélection, quittent la moelle osseuse, entrent dans le flux sanguin et se dirigent vers les organes lymphoïdes secondaires.

Si les cellules B n'entrent pas en contact avec leur antigène spécifique, elles continuent à circuler.

La quatrième phase débute dans les tissus lymphoïdes, quand la cellule B rencontre son antigène spécifique. La cellule B prolifère et se différencie, soit en plasmocyte, sécréteur de grande quantité d'immunoglobulines, soit en cellule B mémoire, qui réagit plus rapidement que la cellule B naïve, lors d'un second contact avec le même antigène.

Les deux dernières phases du développement des cellules B se font en dehors de la moelle osseuse, elles sont antigène-dépendantes

7

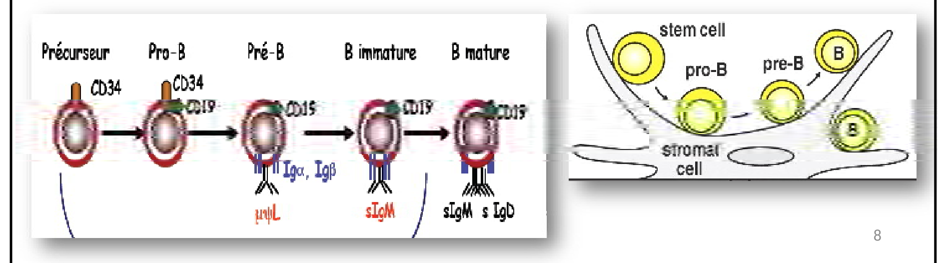
Développement des lymphocytes B dans la moelle osseuse

✓ marquées par des étapes successives de réarrangements et d'expression des gènes d'immunoglobulines,

Permet de produire une cellule B mature naïve possédant
- ✓ une seule chaine lourde
- ✓ et une seule chaine légère
- ✓ et exprimant IgM et IgD de surface à spécificité unique pour l'antigène.

✓ Le développement dépend des cellules du stroma non lymphoïdes

✓ Le microenvironnement est formé par
- ✓des contacts cellule à cellule via des molécules d'adhésion et de leurs ligands (VCAM-1 à la surface des cellules stromales et son ligand VLA-4 à la surface des cellules pré-B).
- ✓ des facteurs de croissance, à savoir le SCF (*Stem Cell Factor), l'IL-3 et l'IL-7, entre autres.*



8

Les cellules B sont originaires de cellules souches hématopoïétiques produites par la moelle osseuse. Les progéniteurs identifiables au stade le plus précoce du développement des cellules B sont appelés cellules pro-B, où les réarrangements géniques des chaines lourdes s'effectuent en premier.

Le rassemblement des segments D et J lors de l'étape précoce des cellules pro-B est suivi par le rassemblement des segments V et DJ lors de l'étape tardive des cellules pro-B. la chaine lourde μ est le premier type de chaine à être produit. Une cellule B qui vient d'exprimer la chaine μ est appelée cellule pré-B.

Les cellules pré-B expriment à leurs surfaces de façon transitoire la chaine μ ainsi que deux protéines mimant une chaine légère d'immunoglobuline appelée chaine légère de substitution ou pseudo-chaine légère μψL (codées par deux gènes VpréB et λ5). La combinaison de la chaine μ et de la chaine légère de substitution définit le pré-récepteur des cellules B, le pré-BCR.

Le réarrangement des chaînes légères commence dans les cellules pré-B, par un réarrangement V-J. une fois produites, elles s'associent aux chaines μ pour former des molécules IgM, qui sont transportées à la surface cellulaire sous forme d'un BCR fonctionnel. Au cours de cette phase, une cellule B exprimant uniquement l'IgM membranaire est nommée **cellule B immature.**

Jusqu'à la fin de cette phase, le développement des cellules B se déroule dans la moelle osseuse et ne nécessite pas d'interaction avec un antigène spécifique. Le caractère aléatoire du processus de réarrangement génique produit en partie des BCR réactifs envers des molécules du soi.

Les cellules B porteuses de ces récepteurs peuvent reconnaitre des autoantigènes, ce qui peut aboutir à des pathologies auto-immunes.

Les cellules B immatures commencent alors **à être sélectionnées** en fonction de leur tolérance vis-à-vis des molécules du soi et, presqu'en même temps, elles commencent à entrer en circulation périphérique. La cellule est maintenant une **cellule B mature ou cellule B naïve puisqu'elle n'a pas encore été exposée à son antigène spécifique.**

9

Développement des lymphocytes B dans les organes lymphoïdes périphériques

Quand les cellules B matures quittent la moelle osseuse, elles se mettent à circuler entre le sang, les tissus lymphoïdes secondaires.

Devenir :

Cellules B activées prolifèrent et se différencient directement en plasmocytes sécréteurs des anticorps.

Cellules B activées migrent dans les follicules primaires qui changent alors de morphologie et deviennent des follicules lymphoïdes secondaires contenant des centres germinatifs où les lymphocytes B subissent les effets de l'hypermutation somatique, de la commutation isotypique et de la maturation d'affinité, ils se différencient soit en

- **Plasmocytes secrétant** des anticorps de haute affinité,
- **Cellules B mémoires** qui persistent plus longtemps et s'activent plus rapidement que les cellules B naïves. Leur activation et différenciation rapides en plasmocytes lors d'un contact ultérieur avec l'antigène permettent le développement d'une réponse humorale secondaire plus rapide et plus puissante que la réponse primaire.

10

Mécanismes de sélection

Comme les lymphocytes T, les lymphocytes B subissent des sélections au cours de leur maturation. Cependant, à la différence des mécanismes de sélection des T qui sont bien connus, ceux de la sélection des B sont moins bien étudiés.

1. la sélection négative :
Elle éliminerait les lymphocytes B fortement auto-réactifs par un phénomène d'apoptose, suivi de phagocytose par les macrophages locaux.
Elle a lieu au niveau de la moelle osseuse.

2. La sélection positive :
Elle concernerait les lymphocytes B restants.
Elle a lieu dans les organes lymphoïdes secondaires.

Les lymphocytes B qui atteignent le stade de maturation fonctionnelle (IgM+/IgD+), gagnent en majorité la rate, à ce niveau,

La masse totale des lymphocytes B est renouvelée tous les trois jours (demi vie 3jrs). Seuls les lymphocytes activés par un antigène restent vivants et circulent vers les ganglions lymphatiques les autres meurent par épuisement métabolique.

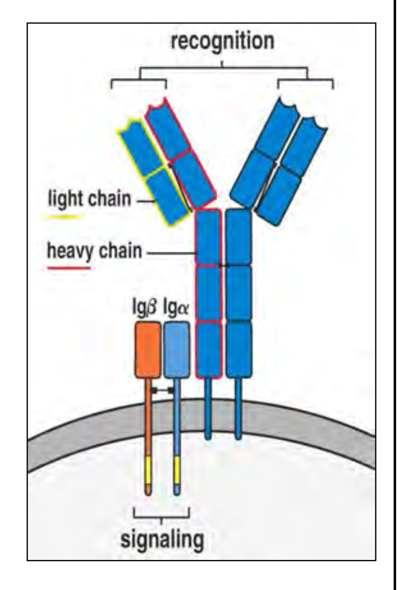
11

Marqueurs des lymphocytes B

1- B cell receptor (BCR)

- Elément fonctionnel majeur de la lignée B.
- L'expression du BCR est restreinte aux LB.

- **Structure :**
  - une molécule complète d'**Ig** (2chaînes H+2 chaînes L) **ancrée** dans la bicouche lipidique et responsable de la reconnaissance des Ag solubles.
  - des chaînes α (**CD79a**) et β (**CD79b**): responsables de la transmission du signal.



12

Marqueurs des lymphocytes B

2- les protéines membranaires de différenciation (CD) :

CD19: B (100%), c'est le meilleure marqueur des LB
CD20: B (à partir de stade pré-B)
CD21: transmission d'un signal de costimulation, conduisent à une protection vis à vis de l'apoptose des LB, et à une hyper expression des CD80, CD86, CD23
CD 23: molécule de prolifération des LB activés(FCεR-IIa)
CD40: exprimé du stade pré-B au stade plasmablaste, impliqué dans l'activation et la synthèse d'Ig et dans l'expression de CD19, CD20, CD23

3- Les molécules d'adhésion:

LFA-1, **LFA-3**, **VLA-1**

4- Autres:

Molécules HLA-II : B (100%)
CD25: sous population, après activation (20 %)

13

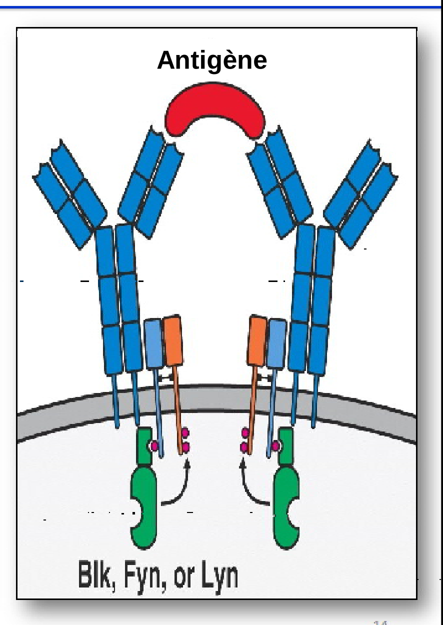
Activation des lymphocytes B

Lorsqu'ils sont agrégés à la surface de la cellule, les BCR délivrent des signaux qui conduisent à l'activation cellulaire.

Il y a phosphorylation des tyrosines des ITAM retrouvés dans les sous unités de transduction du signal Igα et Ig β.

Ceux-ci fonctionnent alors comme des sites de liaison permettant le recrutement de molécules possédant des modules d'interaction moléculaire.

Celles-ci comprennent des enzymes et des molécules adaptatrices.



14

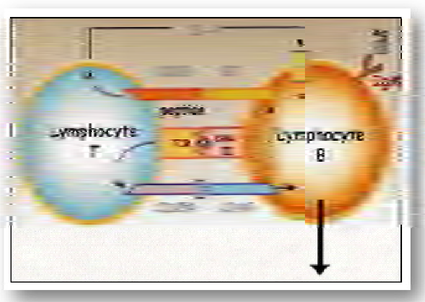
Activation des lymphocytes B

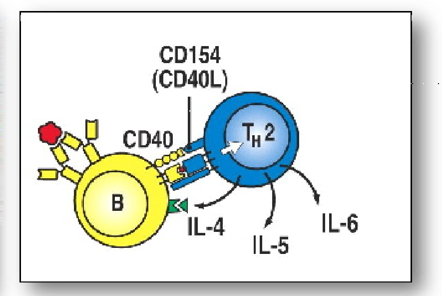
Coopération T-B pour la synthèse d'Ig dirigé contre les Ag thymodépendants

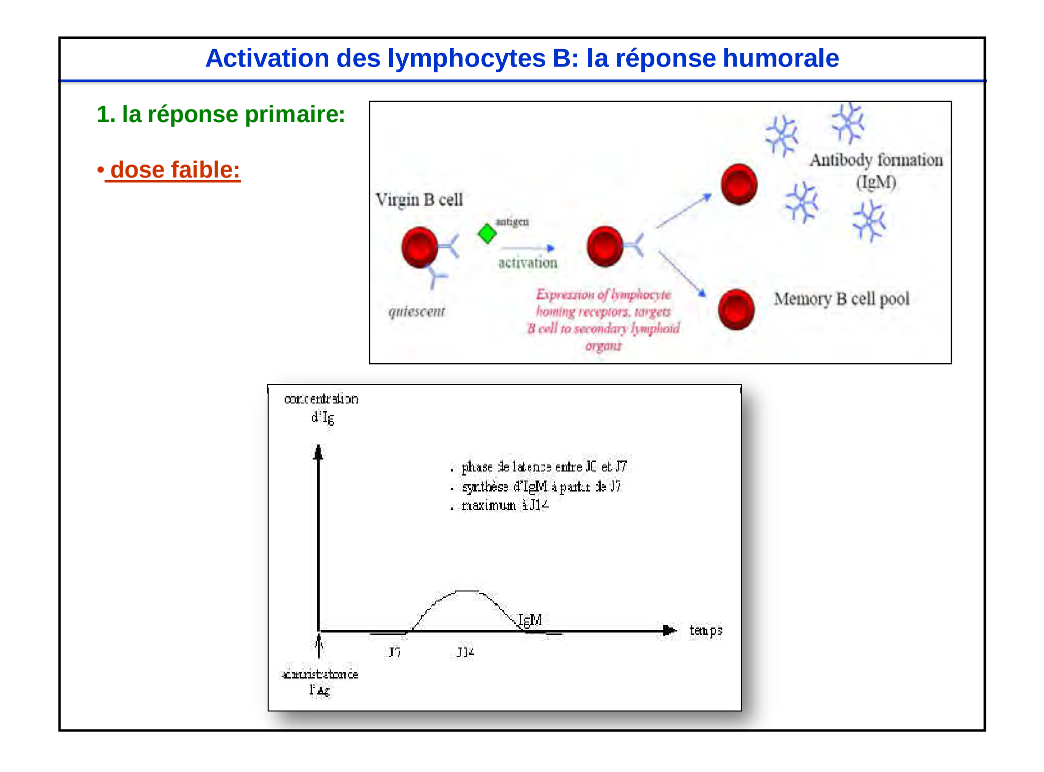
- Signal primaire (CMH-peptide X TCR)
- Signal de co-stimulation (CD28xB7 / CD154xCD40)
- Production de cytokines

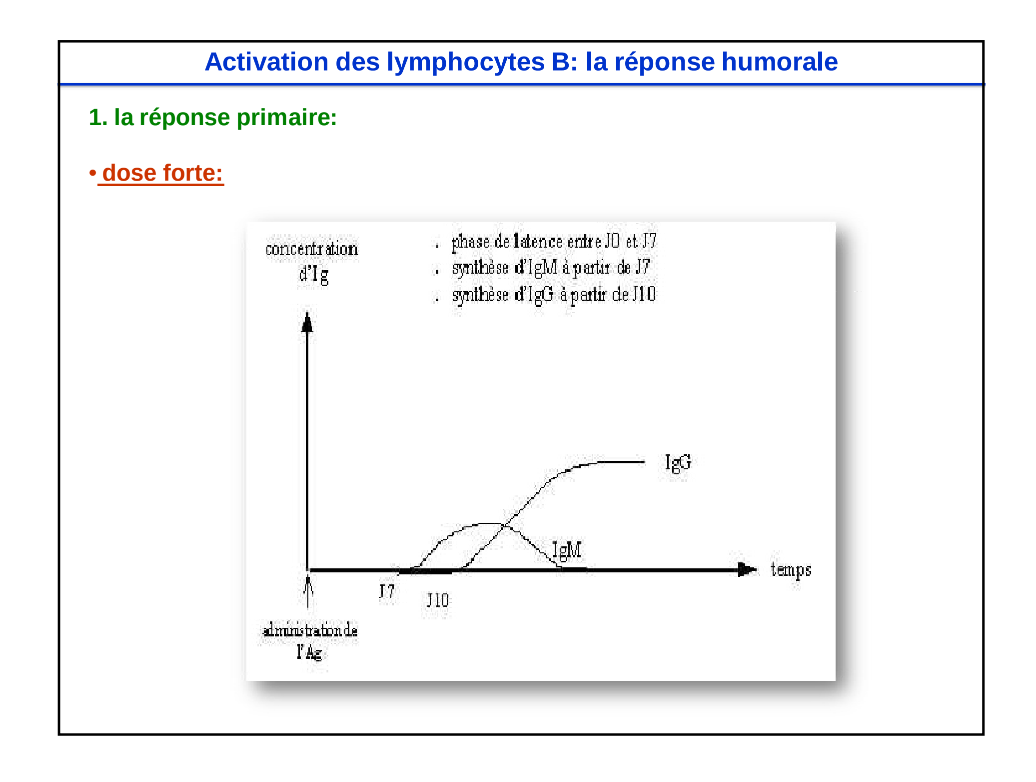
Conséquences :

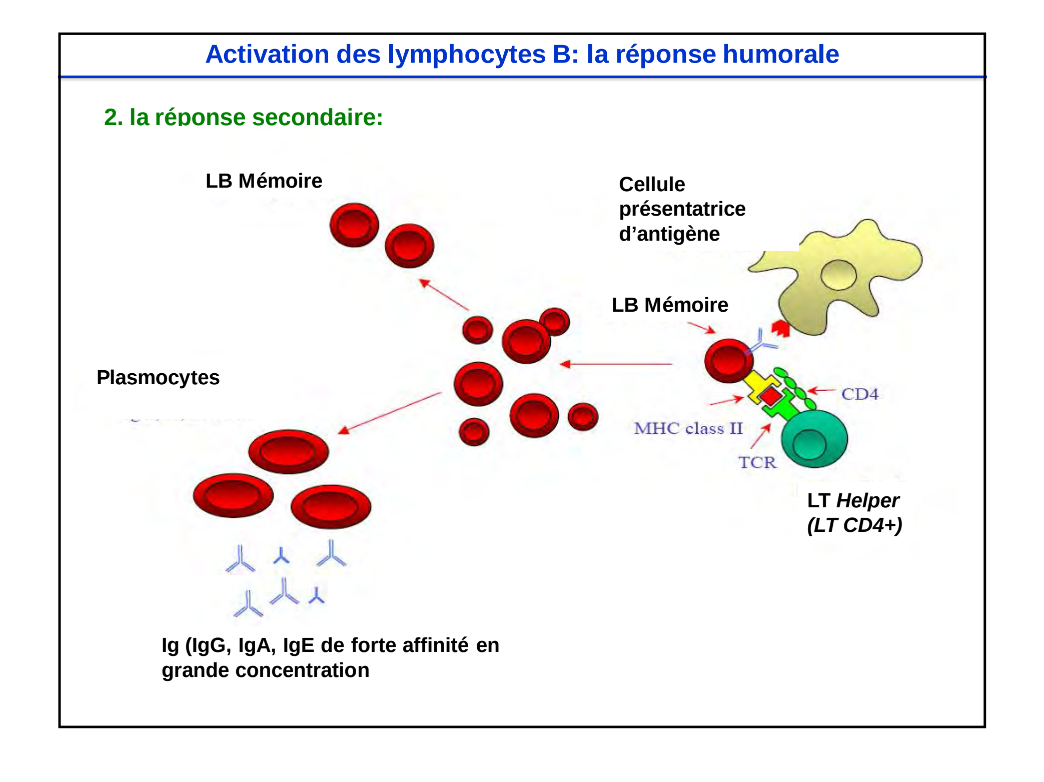
Activation des LB et prolifération **clonale**
Hypermutation somatique,
Switch de classe d'Ig
Différenciation des LB en Plasmocytes
Génération des LB mémoires à longue durée de vie





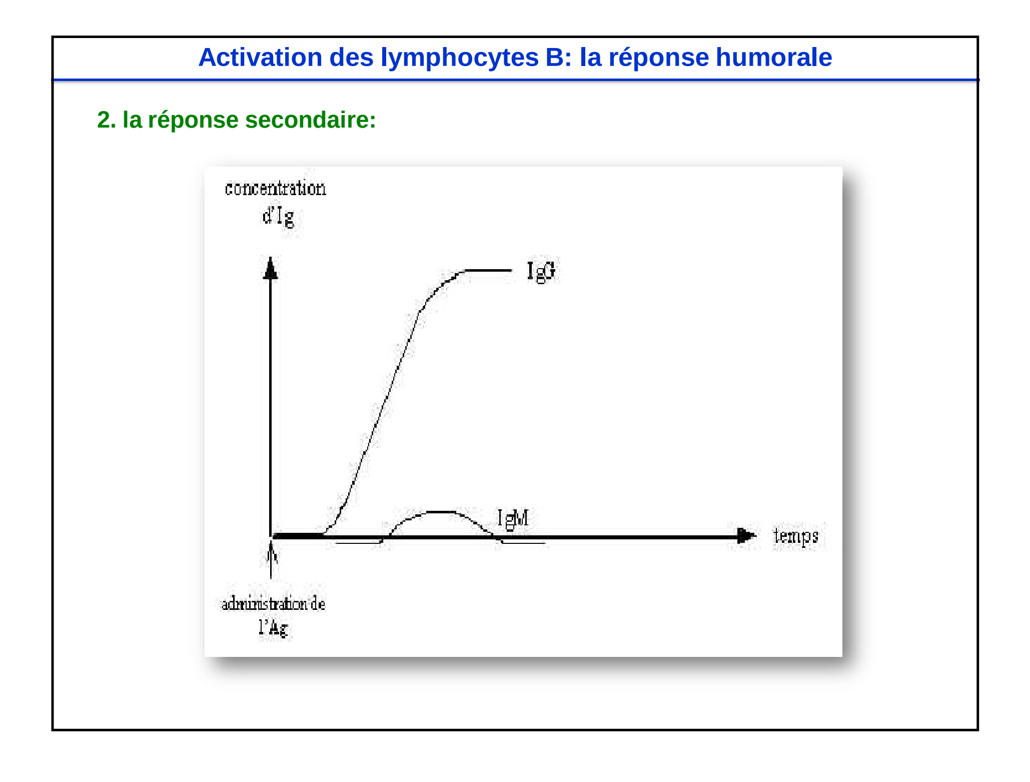



Activation des lymphocytes B: la réponse humorale
1. la réponse primaire:
• dose forte:
concentration d'Ig
. phase de latence entre J0 et J7
. synthèse d'IgM à partir de J7
. synthèse d'IgG à partir de J10
IgG
IgM
temps
J7
J10
administration de l'Ag


Activation des lymphocytes B: la réponse humorale
2. la réponse secondaire:
LB Mémoire
Cellule présentatrice d'antigène
LB Mémoire
Plasmocytes
CD4
MHC class II
TCR
LT Helper (LT CD4+)
Ig (IgG, IgA, IgE de forte affinité en grande concentration

Activation des lymphocytes B: la réponse humorale

2. la réponse secondaire:



Activation des lymphocytes B: la réponse humorale

2. la réponse secondaire:

- **Différence quantitative**
  - Réponse plus rapide: phase de latence beaucoup plus courte.
  - Quantité d'IgG plus importante même pour de petite quantité d'Ag.

- **Différence qualitative**
  - Peu d'IgM .
  - Augmentation IgG de grande affinité pour l'Ag.
  - Peut se produire longtemps après la réponse primaire → réponse anamnestique (grâce aux lymphocytes mémoires)

Exploration des lymphocytes B

Electrophorèse et immunoélectrophorèse des protéines

- Test de dépistage d'un défaut quatitatif (total ou partiel) de la synthèse des Ig
- Se fait sur gel d'agarose
- Peut revenir normale malgrès la présence d'un défaut de synthèse d'une classe d'Ig
- Nécessite si la suspicion d'un défaut de production des Ig est précisée le dosage pondéral de ces Ig

Dosage des immunoglobulines dans les liquides biologiques

- Approche globale dans l'exploration de l'immunité humorale
- Permet l'appréciation du produit final des lymphocytes B
- Le taux des Ig peut être affecté par une variation qualitative ou qualitative des LB
- Se fait par des techniques d'immunoprécipitation en milieu liquide (Néphélométrie LASER)

21

Exploration des lymphocytes B

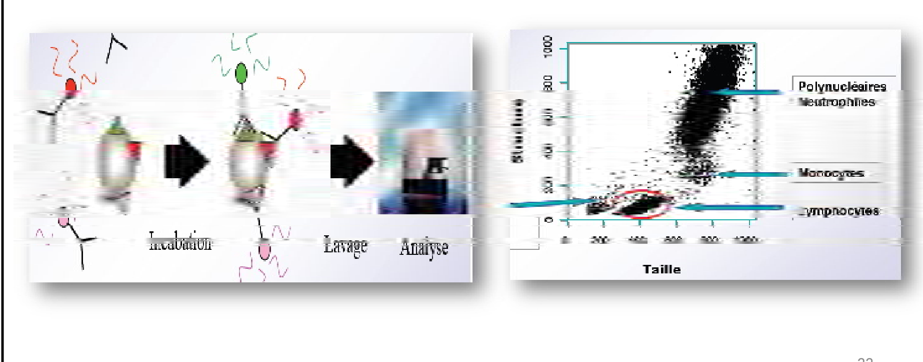
Quantification des LB par marquage membrannaire

Utilise des anticorps monoclonaux fluorescent capablent de reconnaitre les CD spécifique des LB **(CD19 +++, CD20 +)**.

Technique d'Immunofluorescence directe

Par microscopie à fluorescence

Par cytométrie en flux



22

Exploration des lymphocytes B

Tests fonctionnel des LB
Mettre en évidence un défaut interne du métabolisme du LB
Est basée sur des co-cultures cellulaires de LB du patients avec des LT sains

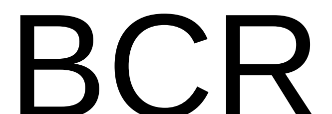
❖ **in-vitro :** stimulation de la synthèse des immunoglobulines par les lymphocytes B
- Etudier les défauts de maturation des lymphocytes B en plasmocytes sécrétant les anticorps ;
- Culture des cellules mononucléées du sang périphérique avec activateur polyclonal des cellules B.

❖ **in-vivo :** évaluation de la formation des anticorps après immunisation

a- Anticorps naturels :
- Isohémagglutinene A et B ;
- Hétéro agglutinines et hétérolysines ;
- ASLO et anticorps bactéricides contre E.coli.

b- Après vaccination :
- Chez les enfants qui n'ont pas été vaccinés, utilisation du vaccin DT aux doses recommandées. Le sang est prélevé 2 semaines après chaque injection pour titrer les anticorps antitétaniques.
- Chez les sujet déjà vaccinés par vaccin DT ou DTC, on administrera une injection de rappel et on procédera au titrage des anticorps.

23



BCR = unité de reconnaissance + unité de transduction du signal

1. Unité de reconnaissance

- Constituée d'une **molécule d'immunoglobuline** qui partage la même structure avec les Ac solubles, sauf que l'extrémité C-terminale des chaînes lourdes possède, en plus, une région transmembranaire formée d'une vingtaine d'acides aminés hydrophobes et une très courte région intra-cytoplasmique.
- Le BCR des lymphocytes B matures comporte une IgM et une IgD membranaire (IgMm, IgDm) qui possèdent la même chaîne légère, et le même domaine VH (même spécificité antigénique).
- Les chaînes **µ** et **δ** résultent de l'épissage alternatif d'un même ARN primaire contenant les deux transcrits : **Cµ** et **Cδ**.
- Les IgM membranaires sont monomériques (µ2 L2)
- Les BCR des lymphocytes B mémoires n'ont pas d'IgDm et comportent en général, une seule classe d'Ig (IgM, IgG, IgA).

